

BBA 75 137

## FRÜHWIRKUNGEN VON GIBBERELLINSÄURE AUF MEMBRANTRANSPORTE IN JUNGEN ERBSENPLÄNZEN

U. LÜTTGE, K. BAUER UND D. KÖHLER

*Botanisches Institut der Technischen Hochschule, Darmstadt (Deutschland)*

(Eingegangen am 27. Dezember, 1967)

---

### SUMMARY

*Immediate effects of gibberellic acid on membrane transport in young pea seedlings.*

Treatment of the shoots of young pea seedlings with gibberellic acid affects the rates of  $K^+$  absorption by the roots and of  $K^+$  transport to the shoot of intact plants. The duration of application of gibberellic acid and the age of the seedlings both affect the magnitude of the effects observed. They also influence the positive or negative direction of the effects. With 6- or 7-day-old plants an increase in transport to the shoots from 0.2 mM solutions is observed within 4 h after treatment with gibberellic acid. The membranes involved must be affected somewhat earlier. Enhancement of shoot growth is detectable within 4 h as well. It is possible, but yet unproven, that gibberellic acid primarily acts upon membranes and transport mechanisms.

---

### EINLEITUNG

In einer vorangegangenen Arbeit<sup>1</sup> wurde gezeigt, dass sich die Mechanismen der Ionenaufnahme durch junge und alte Sprosse von *Mnium cuspidatum* unterscheiden. Dies ist besonders auffällig im hohen Konzentrationsbereich (1–10 mM), wo sich für die Geschwindigkeit der Anionen- und Kationen-aufnahme durch alte Moossprosse bei veränderter Konzentration eine Sättigungskurve ergibt, während die Ionenaufnahme durch die jungen *Mnium* Gametophyten mit wachsender Außenkonzentration linear ansteigt. Diese Erscheinung kann nur durch eine qualitative Veränderung der für die Transportprozesse wichtigen Membranen während des Alterns erklärt werden. Die jungen und alten Moossprosse unterscheiden sich, von einigen mit dem Elektronenmikroskop nachweisbaren Verschiedenheiten (unveröffentlichte Beobachtungen) zunächst abgesehen, hauptsächlich dadurch, dass die jungen Gametophyten eine aktive Gipfelknospe besitzen, die bei den alten Sprossen offenbar ihre Tätigkeit eingestellt hat. Es liegt nahe anzunehmen, dass die Gipfelknospe durch von ihr abgegebene Wuchsstoffe einen direkten Einfluss auf die Membranen und die sich daran abspielenden Transportvorgänge haben könnte. Eine Klärung dieses Problems wäre nicht nur für die Interpretation altersbedingter Veränderungen von Transportphänomenen von Bedeutung, sondern würde auch wesentlich zum Verständnis der Wirkungsweise der Wuchsstoffe beitragen.

---

Abkürzung: GA<sub>3</sub>, Gibberellinsäure.

Es ist seit geraumer Zeit bekannt, dass die pflanzlichen Wachstumshormone auch Transportprozesse, wie z.B. Ionenwanderungen, beeinflussen. Besonders zahlreich sind die Angaben über die Wirkung der Indolylessigsäure und verwandter Substanzen auf den Ionentransport<sup>2-5</sup>. Für entsprechende Gibberellineffekte liegen dagegen sehr viel weniger Daten vor<sup>6</sup>.

Es stellt sich zunächst die Frage, ob die Beeinflussung von Membrantransporten ein Primäreffekt ist, der unmittelbar nach einer Wuchstoffbehandlung von Versuchspflanzen auftritt. Wir haben in der vorliegenden Arbeit versucht, dies für das Gibberellin zu prüfen. Dabei wurden Erbsenpflanzen benutzt, deren Verhalten bei Experimenten mit Gibberellin recht gut bekannt ist<sup>7,8</sup>. Die Kationenaufnahme in die Wurzel und in den Spross verändert sich kurz nach der Gibberellinbehandlung der Sprosse, es bleibt jedoch offen, ob es sich dabei um einen echten Primäreffekt handelt.

#### MATERIAL UND METHODEN

Als Versuchspflanzen dienten Zwergerbsen (kleine Rheinländerin) bzw. Normalerbsen (Schnabel), die in Wasserkultur angezogen wurden. Gibberellinsäure wurde nahe des Spross-Vegetationspunktes 6–13 Tage alter Pflanzen appliziert ( $2 \mu\text{g GA}_3$  in  $10 \mu\text{l} 0.05\%$  Tween 20-Lösung pro Pflanze).

Die Ionenaufnahme- und Transportversuche wurden mit intakten Pflanzen durchgeführt. Über die Versuchsanordnung wurde an anderer Stelle schon ausführlicher berichtet<sup>9</sup>. Je 5 Pflänzchen wurden auf einen Paraffinschwimmer gesetzt und ihre Wurzeln für 1 h in etwa 200 ml KCl-Lösung eingetaucht. Ältere Pflanzen, die auf den Schwimmern leicht umfallen, wurden mit den Wurzeln in Erlenmeyerkolben gebracht, wobei sich die Sprosse im engen Hals der Gefäße von selber über der Lösung hielten. Die  $\text{K}^+$ -Lösungen waren meist 0.2 mM, es wurden aber auch andere Konzentrationen getestet. Zur Markierung von  $\text{K}^+$  diente  $^{86}\text{Rb}^+$ . Die Versuche erfolgten wie die Anzucht in einem Klimaraum im Dauerrotlicht (Philips TL 40 W/15) bei  $26^\circ$  und hoher Luftfeuchtigkeit.

Im Anschluss an die einstündige Aufnahmeperiode wurden die Sprosse und Wurzeln der Pflanzen getrennt. Die Wurzeln wurden zur Auswaschung des freien Raumes 2 mal 15 min in eiskalter, nicht-markierter  $\text{K}^+$ -Lösung gewaschen. Nach der Wägung (Frischgewicht) wurden sowohl die Wurzeln als auch die Sprosse aller 5 Pflanzen eines jeden Schwimmers mit 10 ml heißer 20%  $\text{HNO}_3$  extrahiert. Aliquots der sauren Extrakte wurden auf Glasschälchen eingetrocknet und die Radioaktivität mit einem Geiger-Müller-Zählrohr ermittelt.

Durch Zugrundelegen der bekannten spezifischen Aktivität der benutzten Aussenlösungen wurde die  $\text{K}^+$ -Aufnahme in die Wurzeln bzw. der  $\text{K}^+$ -Transport in die Sprosse als  $\mu\text{Mole/h}$  pro g Frischgew. errechnet. Die angegebenen Werte sind die Mittel von mindestens 3 meist jedoch 5 Parallelen (3 oder 5 Paraffinschwimmer mit je 5 Pflanzen). Die Fehlerangaben sind die Standardabweichungen der Mittel.

#### ERGEBNISSE

Die Resultate der Vorversuche mit bei der Gibberellinbehandlung 8 Tage alten Erbsenpflanzen sind in Tabelle I zusammengefasst. Die Dauer der Gibberellinein-

TABELLE I

WIRKUNG VON GIBBERELLIN AUF DIE MARKIERUNG DER WURZELN UND SPROSSE VON ERBSEN-PFLANZEN BEI DER IONENAUFNAHME AUS  $^{86}\text{Rb}^+$ -MARKIERTEN  $\text{K}^+$ -LÖSUNGEN VERSCHIEDENER KONZENTRATION

Die Pflanzen waren bei der Gibberellinapplikation 8 Tage alt. Die Dauer der Gibberellineinwirkung vor der einstündigen Ionenaufnahme betrug 8 h. Z = Zwergerbsen, N = Normalerbsen. +,  $P < 0.05$ ; ++,  $P < 0.02$ ; +++,  $P < 0.01$  ( $t$ -Test).

| Erbsen<br>varietät | $\text{K}^+ ({}^{86}\text{Rb}^+)$<br>Konzentration<br>(mM) | Effekt der Gibberellinbehandlung in % |                           |               |
|--------------------|--|---------------------------------------|---------------------------|---------------|
|                    |  | Markierung<br>der Wurzeln             | Markierung<br>der Sprosse | Sprossgewicht |
| Z                  | 0.01   | 89 (+)                                | 85                        | 107           |
| Z                  | 0.03   | 92 (++)                               | 87                        | 105           |
| Z                  | 0.10   | 94                                    | 120                       | 114           |
| Z                  | 0.20   | 93                                    | 131 (+++)                 | 112           |
| Z                  | 0.20   |                                       | 84                        | 101           |
| Z*                 | 0.20   |                                       | 146                       | 95            |
| N*                 | 0.20   | 95                                    | 118                       | 106           |
| N                  | 0.20   |                                       | 109                       | 100           |
| N*                 | 0.20   |                                       | 151                       | 103           |
| Z                  | 0.30   | 97                                    | 115                       | 100           |
| Z                  | 40.0   | 95                                    | 121                       | 103           |

\* Behandlung mit Chlorcholinchlorid.

wirkung vor der einstündigen  $\text{K}^+$ -Aufnahme betrug 8 h. Die Ergebnisse lassen erkennen, dass Gibberellin unter diesen Bedingungen den  $\text{K}^+$ -Transport in den Spross fördert, wenn die  $\text{K}^+$ -Aufnahme aus Lösungen verschiedener Konzentration über 0.1 mM erfolgt. Verwendet wurden Zwerp- und Normalerbsen, die sich im Wesentlichen darin unterscheiden, dass die Zwerge im Licht wenig wachsen und stark auf Gibberellin mit erhöhtem Wachstum reagieren, weil sie wenig eigenes Gibberellin enthalten, während die Normalerbsen im Licht stark wachsen und gering auf Gibberellin reagieren, da sie nahezu optimal mit Gibberellin versorgt sind. Den Normalerbsen muss erst mit Hilfe von Chlorcholinchlorid das eigene Gibberellin entzogen werden, damit sie mit gesteigertem Wachstum auf Gibberellin reagieren können. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen stimmen alle Versuche mit Ausnahme des Versuches Zeile 5 qualitativ überein. Wie die nächsten Experimente zeigen, lässt sich dies jederzeit reproduzieren. Der Unterschied zwischen Gibberellin behandelten Pflanzen und Kontrollen liess sich nur in einem Falle durch den  $t$ -Test statistisch sichern. Bei sehr niedrigen Aussenkonzentrationen scheint der Transport durch Gibberellin gehemmt zu werden.

Der Effekt des Gibberellins auf die  $\text{K}^+$ -Akkumulation durch die Wurzeln ist der Wirkung auf den Transport in den Spross entgegengesetzt. Die Markierung der Wurzeln wurde durch die Gibberellinapplikation in allen Fällen verringert. Da der  $\text{K}^+$ -Transport in den Spross sehr viel geringer ist als die Aufnahme in das Wurzelgewebe (siehe auch Fig. 1), kann dies nicht durch einfache Konkurrenz zwischen Sprossen und Wurzeln erklärt werden. Es muss sich um voneinander unabhängige Effekte handeln.

Die Sprossgewichte wurden durch Gibberellin geringfügig erhöht.

Fig. 1 und 2 geben ein Experiment wieder, durch das bei einer  $K^+$ -Konzentration von 0.2 mM der zeitliche Verlauf der Gibberellinwirkung näher untersucht wurde, und zwar sowohl in Hinsicht auf das Alter der Versuchspflanzen (6–13 Tage),

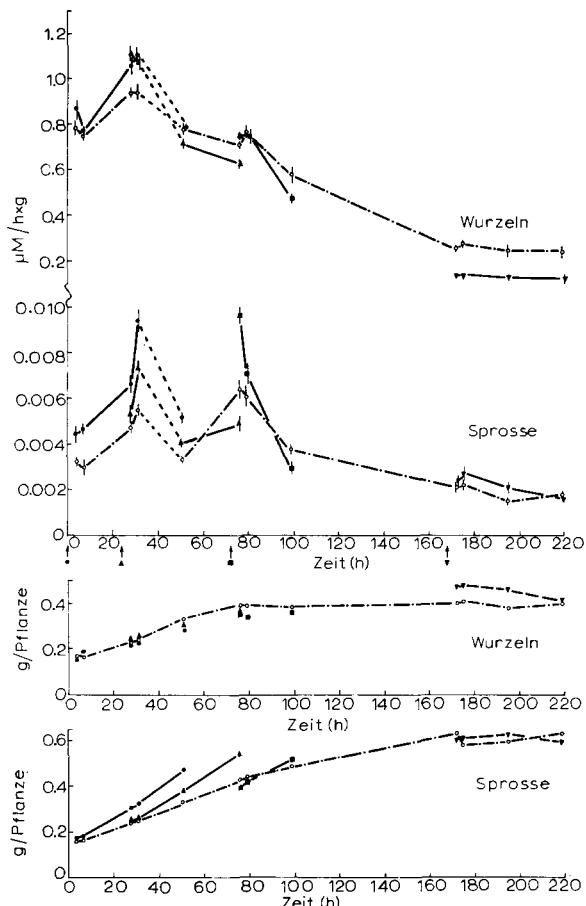


Fig. 1. Der Einfluss von Gibberellinsäure auf die  $K^+$ -Aufnahme durch die Wurzeln und den  $K^+$ -Transport in den Spross (obere Kurven) verschiedenen alter Zwergerbsenpflanzen und auf das Frischgewicht der Sprosse und der Wurzeln (untere Kurven). Die Pfeile geben den Zeitpunkt der Gibberellinsäurebehandlung mit dem für die entsprechenden Pflanzen benutzten Symbol (ausgefüllte Symbole, ausgezogene Linien) an.  $\circ - - \circ$ , nicht mit Gibberellin behandelte Kontrollen.

als auch in Bezug auf die Dauer der Gibberellineinwirkung (4–52 h). Fig. 1 zeigt die absoluten Aufnahme- und Transportraten sowie die Gewichte der Wurzeln und Sprosse. In Fig. 2 sind die Gibberellineffekte in % der Kontrollen dargestellt. Die Kontinuität der Aufnahme- und Transportkurven (Fig. 1 oberer Teil) ist zwischen der 32sten und 52sten Stunde des Experiments unterbrochen, weil hier von der Anordnung der Pflanzen auf den Paraffinschwimmern zu der in den Erlenmeyerkolben übergegangen wurde (siehe oben).

Gibberellin beeinflusst das Wurzelgewicht kaum oder überhaupt nicht. Eine Erhöhung der Sprossgewichte durch die Gibberellinbehandlung lässt sich nur bei

sehr jungen Pflanzen beobachteten (hier 6 bzw. 7 Tage nach der Quellung der Samen).

Die fördernde Wirkung des Gibberellins auf den  $K^+$ -Transport in den Spross ist bei den jüngsten Pflanzen am ausgeprägtesten, bei älteren Pflanzen wird sie geringer oder schlägt in eine Hemmung um. Die Erhöhung der Transportgeschwindigkeit lässt sich schon 4 Stunden nach der Gibberellinapplikation nachweisen. Bei den jüngsten Pflanzen steigt sie bei längerer Dauer der Gibberellineinwirkung sehr viel langsamer an als während der ersten 4 Stunden. Bei älteren Pflanzen geht sie nach einiger Zeit zurück und schlägt sogar in eine Hemmung um. Letzteres tritt umso früher ein, je älter die Pflanzen sind.

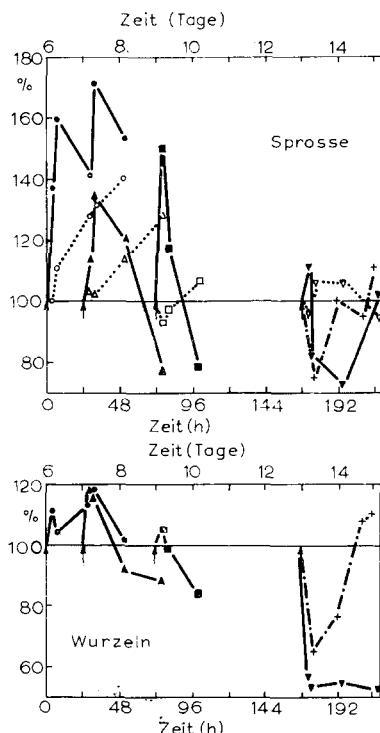


Fig. 2. Wie Fig. 1, statt der absoluten Messwerte sind jedoch die relativen Größen der durch Gibberellin hervorgerufenen Effekte in % der Kontrollen wiedergegeben. Ausgefüllte Symbole und ausgezogene Linien wie bei Fig. 1. Gibberellinwirkung auf den  $K^+$ -Transport in den Spross (oberes Diagramm) bzw. die  $K^+$ -Aufnahme in die Wurzeln (unteres Diagramm). Offene Symbole und punktierte Linien (oberes Diagramm): Gibberellinwirkung auf die Frischgewichte der Sprosse. Diese Werte wurden aus den Ergebnissen der Fig. 1 errechnet. Durch  $+-\cdot+$  ist darüberhinaus die Gibberellinwirkung auf den  $K^+$ -Transport in den Spross bzw. die  $K^+$ -Akkumulation durch die Wurzeln bei einem anderen Experiment wiedergegeben.

Die Art der Gibberellinwirkung auf die  $K^+$ -Akkumulation durch die Wurzeln der jüngsten Pflanzen ist nicht so klar. Die in den Vorversuchen (Tabelle I) beobachtete Hemmung tritt jedenfalls nicht schon in den ersten 4 Stunden nach der Gibberellinbehandlung ein. Hier liesse sich eher eine Förderung vermuten, die erst bei längerer Gibberellineinwirkung in eine Hemmung übergeht. Bei den 13 Tage alten Pflanzen trat die Hemmung sehr rasch nach Beginn der Gibberellinbehandlung ein und blieb dann konstant. Letzteres liess sich durch ein weiteres Experiment mit 13 Tage alten

Pflanzen (strichpunktete Linie in Fig. 2) nicht reproduzieren. Hier war die Hemmung bei länger anhaltender Gibberellineinwirkung rückläufig.

Das wichtigste Ergebnis des beschriebenen Experimentes schien zunächst das rasche Eintreten der Transport-fördernden Wirkung des Gibberellins bei den jüngsten Erbsenpflanzen zu sein. Der Versuch wurde deshalb mit 7 Tage alten Pflanzen wiederholt und die Veränderung der Geschwindigkeit des Transportes in den Spross während der ersten 5.5 Stunden nach der Gibberellinapplikation näher untersucht (Tabelle II). Dieses Experiment bestätigt den Befund, dass der Gibberellineffekt rasch eintritt. Wegen der grossen Streuungen lässt sich eine Zeitangabe leider nicht in der gewünschten Genauigkeit machen; es kann aber damit gerechnet werden, dass das applizierte Gibberellin innerhalb der ersten beiden Stunden wirksam wird.

Zum Vergleich wurde der Einfluss des Gibberellins auf die Achsenverlängerung während der ersten 9 Stunden nach der Gibberellinapplikation so genau wie möglich untersucht. Dazu wurden die Längen von je 160 behandelten und unbehandelten Zwergerbsenpflanzen in regelmässigen Abständen innerhalb 9 Stunden nach Versuchsbeginn einmalig gemessen. Die Längen scheinen, soweit sich das bei den niedrigen Wachstumsraten und den daher relativ grossen Fehlern erkennen lässt, linear mit der Zeit zuzunehmen. Unter dieser Voraussetzung wurden für behandelte Pflanzen und Kontrollen Regressionsgeraden errechnet, deren Werte in der Tabelle III angegeben sind. Die errechneten Anfangslängen unterscheiden sich nicht gesichert, die Regressionskoeffizienten sind verschieden. Die Fehler der errechneten Anfangslängen und der Regressionskoeffizienten sind gleich gross, was darauf hindeutet, dass beide Regressionen gleichartig und wohl voraussetzungsgemäss linear sind. Der Schnittpunkt der Geraden liegt bei 1.1 Stunden. Daher wird die auf Grund der Geraden er-

TABELLE II

WIRKUNG VERSCHIEDEN LANGER GIBBERELLINBEHANDLUNG AUF DEN K<sup>+</sup>-TRANSPORT IN DEN SPROSS UND DAS SPROSSGEWICHT 7 TAGE ALTER ZWERGERBSENPFLANZEN

Konzentration der Aussenlösung 0.2 mM. +++,  $P = 0.01$ .

| Dauer der<br>Gibberellin-<br>behandlung<br>(h) | Transport in den Spross |                  | Gibberellineffekt<br>(% der Kontrollen) |         |
|--|-------------------------|------------------|---|---------|
|  | Mit Gibberellin         | Ohne Gibberellin | Transport                               | Gewicht |
| 1  | 5.56 ± 0.37             | 5.80 ± 0.47      | 96                                      | 96      |
| 2.5  | 9.68 ± 0.70             | 7.32 ± 0.12      | 132(+++)                                | 95      |
| 4  | 5.93 ± 0.58             | 5.73 ± 0.55      | 104                                     | 98      |
| 5.5  | 8.56 ± 0.23             | 6.16 ± 0.59      | 139(+++)                                | 99      |

TABELLE III

REGRESSIONSGERÄDEN FÜR DIE LÄNGENZUNAHME GIBBERELLIN-BEHANDELTER UND UNBEHANDELTER ZWERGERBSENPFLANZEN IN DEN ERSTEN 9 STUNDEN NACH VERSUCHSBEGINN

Regressionsgerade:

$$\text{der Kontrollen: } y [\text{mm}] = 26.836 (\pm 0.321) + 0.221 (\pm 0.097) \cdot [h]; \\ \text{mit Gibberellin: } y [\text{mm}] = 26.479 (\pm 0.316) + 0.542 (\pm 0.091) \cdot [h];$$

Identität der Nullpunkte:  $P = 0.5$  bis 0.4;

Identität der Regressionskoeffizienten:  $P < 0.02$

rechnete Längendifferenz erst zwischen der 3. und 4. Stunde signifikant. Die Gibberellinwirkung auf das Wachstum beginnt demnach innerhalb der ersten 4 Stunden nach der Behandlung.

#### DISKUSSION

Aufgrund von Untersuchungen über den Einfluss des Gibberellins auf die Amylasesynthese im Gerstenaleuron wird sein Angriffspunkt heute in erster Linie auf der Ebene der Transkription der genetischen Information vermutet<sup>10-12</sup>. Dieser Vorgang und seine Folgeprozesse erfordern wahrscheinlich relativ lange Zeiten. Die lagphase der Gibberellin-induzierten Amylasebildung im Gerstenendosperm beträgt z.B. über 6 Stunden. Der Einfluss des Gibberellins auf den K<sup>+</sup>-Transport und das Wachstum konnte in der vorliegenden Arbeit in erheblich kürzerer Zeit nachgewiesen werden. Leider lassen unsere Experimente keine Entscheidung darüber zu, ob die Sprosstreckung oder der Transport schneller beeinflusst werden; es scheint jedoch ausser Frage zu sein, dass der veränderte Transport nicht die Folge der Streckung sein kann. Dagegen spricht, dass die Gibberellin-bedingte Sprossgewichtszunahme relativ geringer ist als die Erhöhung der Transportrate. Denkbar wäre dagegen eine entgegengesetzte ursächliche Beziehung. Da die hier untersuchten K<sup>+</sup>-Transporte allgemein als Indikatoren für die Membrancharakteristika angesehen werden können<sup>9,13,14</sup>, müsste man dabei einen direkten Effekt des Gibberellins auf die Membranen in Betracht ziehen.

Die Bedeutung des Alters der Erbsenpflanzen für die Grösse und die Richtung der beschriebenen Gibberellineffekte ist ein interessantes, bisher in dieser Weise nicht bekanntes Phänomen. Eine genaue Erklärung dieser Erscheinung ist gegenwärtig nicht möglich. Dass der fördernde Einfluss des Gibberellins auf den K<sup>+</sup>-Transport in den Spross und auf die Gewichtszunahme der Sprosse bei sehr jungen Pflanzen besonders stark ist, deckt sich mit der Erfahrung, dass hier auch die Wachstum-steigende Wirkung am ausgeprägtesten ist<sup>15</sup>.

#### DANK

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre Unterstützung.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Am Sprossvegetationspunkt applizierte Gibberellinsäure beeinflusst die K<sup>+</sup>-Aufnahme in die Wurzeln und den K<sup>+</sup>-Transport in den Spross intakter Erbsenpflanzen. Die Dauer der Gibberellineinwirkung und das Alter der Versuchspflanzen haben Einfluss auf die Grösse und auf die hemmende oder fördernde Natur des Gibberellineffektes. Bei 6-7 Tage alten Erbsenpflanzen lässt sich schon innerhalb der ersten 4 Stunden nach der Gibberellinapplikation eine Förderung des K<sup>+</sup>-Transportes aus einer 0.2 mM Lösung in den Spross nachweisen. Die Gibberellineinwirkung auf die dafür entscheidenden Membranen beginnt spätestens innerhalb der ersten 2 Stunden. Eine Beeinflussung des Streckungswachstums zeigt sich ebenfalls innerhalb 4 Stunden.

## LITERATUR

- 1 U. LÜTTGE UND K. BAUER, *Planta*, 78 (1968) 310.
- 2 R. L. WAIN AND F. WIGHTMAN (eds.), *The Chemistry and Mode of Action of Plant Growth Substances*, Butterworth, London, 1956.
- 3 H. BURSTRÖM (ed.), *Wachstum und Wuchsstoffe, Handbuch der Pflanzenphysiologie*, Bd. XIV, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1961.
- 4 S. ŠEBÁNEK, *Planta*, 75 (1967) 283.
- 5 L. BRAUNER UND R. DIEMER, *Planta*, 77 (1967) 1.
- 6 A. H. HALEVY AND S. H. WITTWER, *Planta*, 67 (1965) 375.
- 7 J. H. LOCKHART, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.*, 42 (1956) 841.
- 8 C. J. GORTER, *Physiol. Plantarum*, 14 (1961) 332.
- 9 U. LÜTTGE AND G. G. LATIES, *Plant Physiol.*, 42 (1966a) 1531.
- 10 R. A. FLETCHER AND D. J. OSBORNE, *Can. J. Botany*, 44 (1966) 739.
- 11 J. NITSAN AND A. LANG, *Plant Physiol.*, 41 (1966) 965.
- 12 G. RAM CHANDRA AND J. E. VARNER, *Biochim. Biophys. Acta*, 108 (1965) 583.
- 13 U. LÜTTGE AND G. G. LATIES, *Plant Physiol.*, 42 (1966b) 181.
- 14 U. LÜTTGE AND G. G. LATIES, *Planta*, 74 (1967) 173.
- 15 D. KÖHLER, *Planta*, 63 (1964) 326.

*Biochim. Biophys. Acta*, 150 (1968) 452-459